植 物 分 类 学 报 41(5):416-426(2003)
Acta Phytotaxonomica Sinica

蹄盖蕨科的系统发育:叶绿体 DNA *trn*L-F 区序列证据

[1,2]王玛丽 [1]陈之端 [1]张宪春 [3]陆树刚 [2]赵桂仿*
[1](中国科学院植物研究所系统与进化植物学重点实验室 北京 100093)
[2](西北大学生命科学学院 西安 710069) [3](云南大学环境科学系 昆明 650091)

Phylogeny of the Athyriaceae: evidence from chloroplast *trn*L-F region sequences

[1,2]WANG Ma-Li [1]CHEN Zhi-Duan [1]ZHANG Xian-Chun [3]LU Shu-Gang [2]ZHAO Gui-Fang*
[1](*Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093, China)
[2](*College of Life Sciences, Northwest University*, Xi'an 710069, China)
[3](*Department of Environmental Sciences, Yunnan University*, Kunming 650091, China)

Abstract The Athyriaceae are a large and complex family. The phylogenetic relationships among the genera in the family are not well understood, and the systematic positions of *Neoathyrium crenulatoserrulatum*, *Kuniwatsukia*, *Pseudocystopteris*, *Diplaziopsis*, *Allantodia* and *Callipteris* have long been controversial. Nucleotide sequences of the chloroplast *trn*L-F region from 34 species of the Athyriaceae and three species in two other families were analyzed to gain insights into the intergeneric relationships. The phylogenetic relationships of the genera were inferred using the neighbor-joining and maximum parsimony methods, and both methods produced largely congruent trees. These trees reveal that: (1) the results of the *trn*L-F region sequence analyses and those of the *rbc*L gene sequence analyses are largely congruent; (2) *Neoathyrium crenulatoserrulatum* (Makino.) Ching & Z. R. Wang should be transferred to *Cornopteris* Nakai; (3) *Pseudocystopteris* Ching and *Kuniwatsukia* Pic. Serm. should be placed in *Athyrium* Roth; (4) *Diplaziopsis* C. Chr. belongs to the *Diplazium* clade; (5) *Allantodia* R. Br. emend. Ching, *Callipteris* Bory should be included in *Diplazium* Sw.; (6) Athyriaceae may better be divided into five subfamilies: Cystopterioideae, Athyrioideae, Deparioideae, Diplazioideae and Rhachidosorioideae.

Key words Athyriaceae, *trn*L-F region, phylogeny.

摘要 蹄盖蕨科 Athyriaceae 是蕨类植物中一个复杂的大科,由于属间关系不甚清楚,该科分类系统还有一些问题,比如新蹄盖蕨、拟鳞毛蕨属、假冷蕨属、肠蕨属、短肠蕨属和菜蕨属的系统位置常有争议。根据蹄盖蕨科 34 种植物和 3 种外类群植物的叶绿体 DNA *trn*L-F 区序列建立了系统发育树,结果显示:1. *trn*L-F 区序列分析的结果与 *rbc*L 基因序列分析的结果几乎一致。2. 新蹄盖蕨属 *Neoathyrium* Ching & Z. R. Wang 不应成立,该属应与角蕨属 *Cornopteris* Nakai 合并。3.假冷蕨属 *Pseudocystopteris* Ching 和拟鳞毛蕨属 *Kuniwatsukia* Pic. Serm.应属于蹄盖蕨属 *Athyrium* Roth。4. 肠蕨属 *Diplaziopsis* C. Chr.与双盖蕨属 *Diplazium* Sw.具有密切的亲缘关系。5. 菜蕨属 *Callipteris* Bory、短肠蕨属 *Allantodia* R. Br. emend. Ching 应与双盖蕨属 *Diplazium* 合并。6. 蹄盖蕨科应分为 5 个亚科:冷蕨亚科 Cystopterioideae、蹄盖蕨亚科

2003-01-13 收稿,2003-06-16 收修改稿。
基金项目:陕西省教育厅专项科研基金(01JK100);西北大学自然科学基金(OONW48)(Supported by the Natural Science Foundation of the Education Department of Shaanxi Province (Grant No. 01JK100) and the Natural Science Foundation of Northwest University (Grant No. OONW48)。
* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: guifang@nwu.edu.cn; Tel.: 029-8303572)。

Athyrioideae、双盖蕨亚科 Diplazioideae、Deparioideae 和轴果蕨亚科 Rhachidosorioideae。

关键词 蹄盖蕨科；*trn*L-F 序列；系统发育

蹄盖蕨科 Athyriaceae 是秦仁昌(1954)首先提出来的，当时为裸名，后来由 Alston (1956)正式发表，但他扩大了秦仁昌的概念，把球子蕨科 Onocleaceae Ching ex Pic. Serm. 和岩蕨科 Woodsiaceae Ching ex Herter 也包括进来。Pichi-Sermolli (1977)在其发表的系统中将肿足蕨属 *Hypodematium* Kunze (Hypodematiaceae) 并入蹄盖蕨科。Tryon 和 Tryon (1982) 及 Kramer 和 Kato (1990) 则把广义的蹄盖蕨科放入了广义的鳞毛蕨科 Dryopteridaceae s.l. 下的岩蕨族 tribe Physematieae，Kramer 和 Kato (1990)在这两个等级之间还增加了蹄盖蕨亚科 Athyrioideae。四种分类系统的比较如图 1 所示。

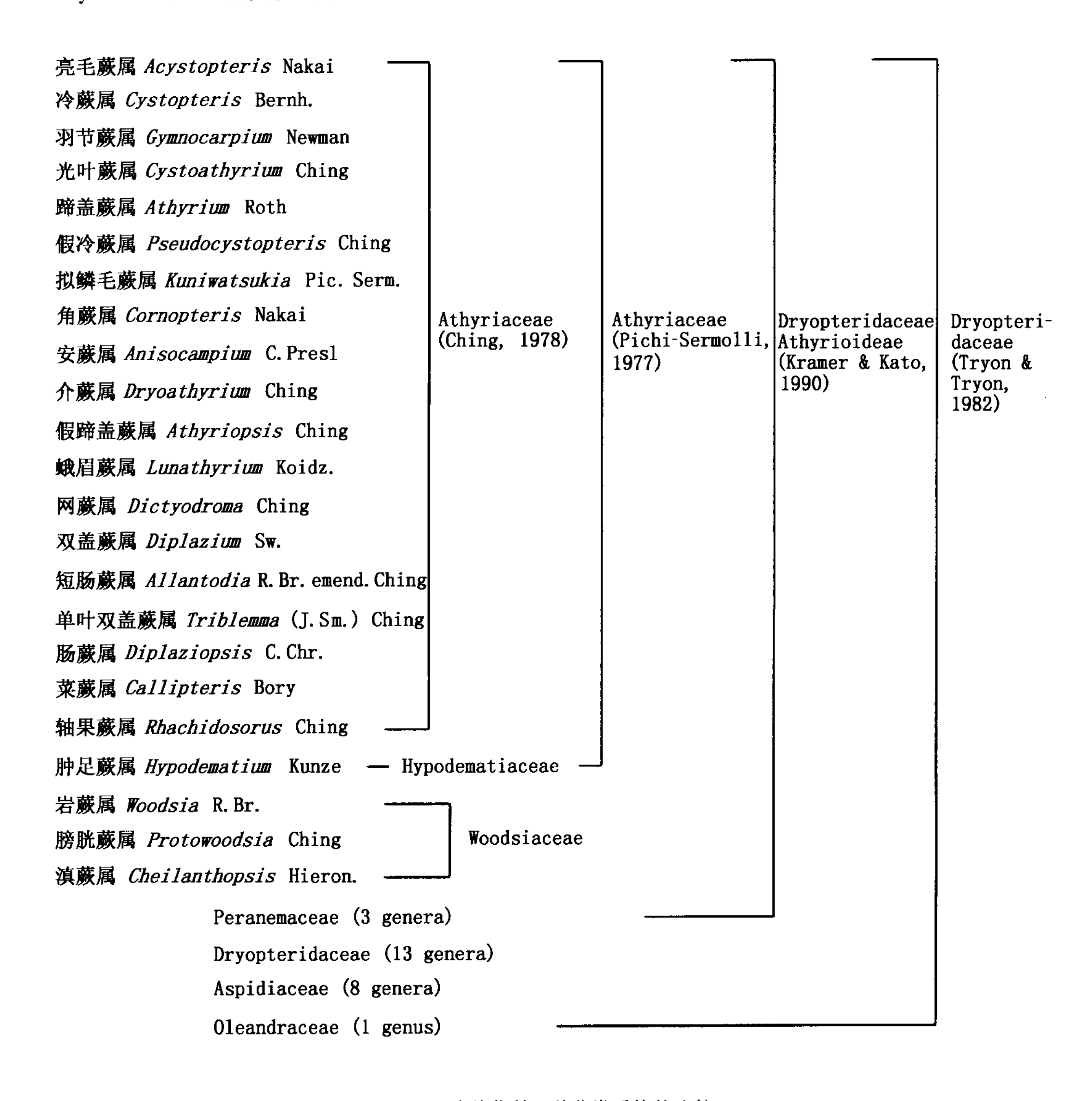


图 1 蹄盖蕨科四种分类系统的比较

Fig. 1. Comparison of four recent classifications of the Athyriaceae.

现代分子系统学研究为解决该科的系统学问题提供了很好的证据。运用 cpDNA 基因组编码磷酸核酮糖羧化酶大亚基(*rbc*L)的基因序列构建的系统树(Sano et al., 2000a)显示,肿足蕨属与狭义的鳞毛蕨科有密切的亲缘关系,不应包括在蹄盖蕨科中,同时显示蹄盖蕨科、金星蕨科 Thelypteridaceae、乌毛蕨科 Blechnaceae、球子蕨科和岩蕨科共同构成一条与鳞毛蕨科平行的分支,因此可以说明 Tryon 和 Tryon (1982) 及 Kramer 和 Kato (1990) 把广义的蹄盖蕨科放入广义的鳞毛蕨科是不合理的。所以,在本文中,我们根据《中国植物志》第三卷第二分册(朱维明等,1999)的系统,即秦仁昌(1978)的系统并稍做改动,这样以上所提的科属均不包括在内。

然而,即使按秦仁昌(1978)的狭义的概念,该科仍是一个庞大而复杂的类群。孢子囊群及囊群盖的形态是蕨类植物最重要的分类依据,而它们在蹄盖蕨科中是多变的,有的种类甚至无囊群盖。因此仅依靠形态性状难以确定各分类群的进化地位。Sano 等(2000a)根据 *rbc*L 系统树得出以下结论:1. 蹄盖蕨属 *Athyrium* Roth、角蕨属 *Cornopteris* Nakai、假冷蕨属 *Pseudocystopteris* Ching、安蕨属 *Anisocampium* C. Presl 形成一支,蹄盖蕨属为多系群。2. *Deparia* sensu Kato 为单系群。3. 肠蕨属 *Diplaziopsis* C. Chr. 与 *Homalosorus* Pic. Serm. 形成一支,并独立于蹄盖蕨亚科的其他属。4. 毛轴线盖蕨属 *Monomelangium* Hayata 与双盖蕨属 *Diplazium* Sw. 为单系群。5. 轴果蕨属 *Rhachidosorus* Ching 与蹄盖蕨属和双盖蕨属具有较远的亲缘关系。其中部分观点与传统观点相左,所以,有必要选择其他基因进一步揭示该科中各属的系统演化位置。

我们获得了蹄盖蕨科 34 种植物和 3 种外类群植物的 *trn*L-F 区序列,目的在于解决以下问题:1. *rbc*L 基因序列分析的结果与 *trn*L-F 区序列分析的结果是否一致? 2. 新蹄盖蕨属 *Neoathyrium* Ching & Z. R. Wang 是否成立? 3. 假冷蕨属和拟鳞毛蕨属 *Kuniwatsukia* Pic. Serm. 是否应包括在蹄盖蕨属中? 4. 肠蕨属与双盖蕨属的关系如何? 5. 短肠蕨属 *Allantodia* R. Br. emend. Ching 和菜蕨属 *Callipteris* Bory 是否应属于双盖蕨属? 6. 蹄盖蕨科的亚科究竟如何划分? 现将结果报道如下。

1 材料和方法

材料来源见表 1。取蹄盖蕨科 34 种植物和 3 种外类群植物的新鲜叶在硅胶中干燥。凭证标本存放于西北大学标本馆(WNU)和中国科学院植物研究所标本馆(PE)。

总 DNA 的提取采用 CTAB 方法(Doyle & Doyle, 1987)。*trn*L-F 区使用通用引物"c"和"f"(Taberlet et al., 1991),其中"c"引物稍做修改(Wei & Wang, 2003),其序列为 5′-CGGAATTGGTAGACGCTACG-3′,"f" 引物为 5′-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3′。通过多聚酶链式反应(PCR)进行扩增,其反应程序为:94 ℃热启动 3 min;94 ℃变性 1 min,48 ℃退火 1 min,72 ℃延长 2 min,35 个循环;最后 72 ℃延长 7 min。扩增产物经纯化后在 ABI 377 DNA 自动测序仪上进行测序。序列排列用 CLUSTAL W 软件(Higgins, 1994)自动完成,并进行适当的手工校正。排列好的序列用 PAUP* v4.0b4a 软件(Swofford, 2000)进行系统发育分析。

用华北鳞毛蕨、长刺复叶耳蕨和假大羽铁角蕨作为外类群。

表 1　材料来源及 GenBank 序列号

Table 1　Origin of materials and GenBank accession No.

分类群 Taxon	采集地 Locality	凭证标本 Voucher	GenBank 序列号 Accession No.
蹄盖蕨科 Athyriaceae			
尖头蹄盖蕨 *Athyrium vidalii* (Franch. & Sav.) Nakai	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 723 (WNU)	AF515231
华中蹄盖蕨 *Athyrium wardii* (Hook.) Makino	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 731 (WNU)	AF515259
长江蹄盖蕨 *Athyrium iseanum* Rosenst.	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 726 (WNU)	AF515254
光蹄盖蕨 *Athyrium otophorum* (Miq.) Koidz.	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 713 (WNU)	AF515236
贵州蹄盖蕨 *Athyrium pubicostatum* Ching & Z. Y. Liu	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 725 (WNU)	AF514833
轴果蹄盖蕨 *Athyrium epirachis* (Christ) Ching	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 710 (WNU)	AF515239
日本蹄盖蕨 *Athyrium niponicum* (Mett.) Hance	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 013 (WNU)	AF515256
东北蹄盖蕨 *Athyrium brevifrons* Nakai ex Kitagawa	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 9001 (WNU)	AF514834
异果短肠蕨 *Allantodia heterocarpa* (Ching) Ching	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 707 (WNU)	AF515237
卵果短肠蕨 *Allantodia ovata* W. M. Chu	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 703 (WNU)	AF515232
耳羽短肠蕨 *Allantodia wichurae* (Mett.) Ching	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 702 (WNU)	AF515245
江南短肠蕨 *Allantodia metteniana* (Miq.) Ching	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 717 (WNU)	AF515233
峨眉介蕨 *Dryoathyrium unifurcatum* (Bak.) Ching	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 727 (WNU)	AF515235
无齿介蕨 *Dryoathyrium edentulum* (Kunze) Ching	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 705 (WNU)	AF515244
直立介蕨 *Dryoathyrium erectum* (Z. R. Wang) W. M. Chu & Z. R. Wang	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 730 (WNU)	AF515240
鄂西介蕨 *Dryoathyrium henryi* (Bak.) Ching	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 006 (WNU)	AF515249
单叶双盖蕨 *Diplazium subsinuatum* (Wall. ex Hook. & Grev.) Tagawa	云南马关 Maguan, Yunnan	陆树刚 (S. G. Lu) 2813 (WNU)	AF515238
薄叶双盖蕨 *Diplazium pinfaense* Ching	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 701 (WNU)	AF515250
海南双盖蕨 *Diplazium hainanense* Ching	广东鼎湖山 Dinghushan Mt., Guangdong	廖文波 (W. B. Liao) 734 (WNU)	AF515257
川黔肠蕨 *Diplaziopsis cavaleriana* (Christ) C. Chr.	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 704 (WNU)	AF515251
角蕨 *Cornopteris decurrenti-alata* (Hook.) Nakai	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 729 (WNU)	AF515246
新蹄盖蕨 *Neoathyrium crenulatoserrulatum* (Makino) Ching & Z. R. Wang	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽(M. L. Wang) 9006 (WNU)	AF515252
美丽假蹄盖蕨 *Athyriopsis concinna* Z. R. Wang	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 715 (WNU)	AF514835
假蹄盖蕨 *Athyriopsis japonica* (Thunb.) Ching	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 012 (WNU)	AF515247
大叶假冷蕨 *Pseudocystopteris atkinsonii* (Bedd.) Ching	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 9002 (WNU)	AF514836
三角叶假冷蕨 *Pseudocystopteris subtriangularis* (Hook.) Ching	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 007 (WNU)	AF515234
东亚羽节蕨 *Gymnocarpium oyamense* (Bak.) Ching	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 011 (WNU)	AF515248

表1（续） **Table 1** (continued)

分类群 Taxon	采集地 Locality	凭证标本 Voucher	GenBank序列号 Accession No.
菜蕨 *Callipteris esculenta* (Retz.) J. Sm. ex Moore & Houlst.	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 733 (WNU)	AF514838
拟鳞毛蕨 *Kuniwatsukia cuspidata* (Bedd.) Pic. Serm.	云南马关 Maguan, Yunnan	陆树刚 (S. G. Lu) 2810 (WNU)	AF515253
陕西蛾眉蕨 *Lunathyrium giraldii* (Christ) Ching	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 006 (WNU)	AF515258
华中蛾眉蕨 *Lunathyrium shennongense* Ching, Boufford & K. H. Shing	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 732 (WNU)	AF515255
喜钙轴果蕨 *Rhachidosorus consimilis* Ching	云南马关 Maguan, Yunnan	陆树刚 (S. G. Lu) 2812 (WNU)	AF514837
亮毛蕨 *Acystopteris japonica* (Luerss.) Nakai	重庆金佛山 Jinfoshan Mt., Chongqing	王玛丽 (M. L. Wang) 716 (WNU)	AF515230
膜叶冷蕨 *Cystopteris pellucida* (Franch.) Ching ex C. Chr.	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 9003 (WNU)	AF515260
鳞毛蕨科 Dryopteridaceae			
华北鳞毛蕨 *Dryopteris goeringiana* (Kunze) Koidz.	陕西佛坪 Foping, Shaanxi	王玛丽 (M. L. Wang) 737 (WNU)	AF515241
长刺复叶耳蕨 *Arachniodes setifera* Ching	海南霸王岭 Bawangling, Hainan	陈之端 (Z. D. Chen) HN126 (PE)	AF515242
铁角蕨科 Aspleniaceae			
假大羽铁角蕨 *Asplenium pseudolaserpitiifolium* Ching	海南尖峰岭 Jianfengling, Hainan	陈之端 (Z. D. Chen) HN222 (PE)	AF515243

2 实验结果

蹄盖蕨科的 *trn*L-F 区序列长度在 816 - 932 bp 的范围内变化。37 种植物的 *trn*L-F 区序列排列后的总长度为 960 bp,其中 553 个位点为变异位点,336 个位点具有系统发育信息,信息位点数目占 *trn*L-F 序列总长度的 35%。

在蹄盖蕨科 *trn*L-F 区序列排列的矩阵中,大约有 40 个位置的插入或缺失,由于这些插入或缺失较多又长短不同,如果将空位(gap)作为第五种碱基(fifth base)状态处理,空位应给予不同的权重,在本文中,我们将空位只作为缺失(missing)状态处理。

为了更准确地说明问题,我们采用两种方法对序列进行分析,分别是最大简约法(maximum parsimony, MP)和邻接法(neighbor-joining, NJ)。在 MP 中,用启发式(heuristic)寻找,得到 2 棵步长为 1246 的同等最简约树的 50%多数原则一致树(图 2)。在自展百分比分析中,经过 1000 次重复抽样计算,获得的最简约树的一致性指数(*CI*)为0.6228,保持指数(*RI*)0.7328,重复尺度一致性指数 0.4564。

用邻接法经过 1000 次重复抽样计算,同样获得 50%多数原则一致树(图 3)。

用两种方法获得的系统树结果接近,但轴果蕨属 *Rhachidosorus* Ching 的位置不同,在 MP 中,它是蹄盖蕨科最远的一个分支,而在 NJ 中,它的分支位于亮毛蕨属、冷蕨属和羽节蕨属一支的内侧。

3 讨论和分析

3.1 蹄盖蕨科 *trn*L-F 系统树与 *rbc*L 系统树的比较

*trn*L-F 系统树与 *rbc*L 系统树具有以下共同点:(1)蹄盖蕨属、角蕨属、假冷蕨属、拟鳞

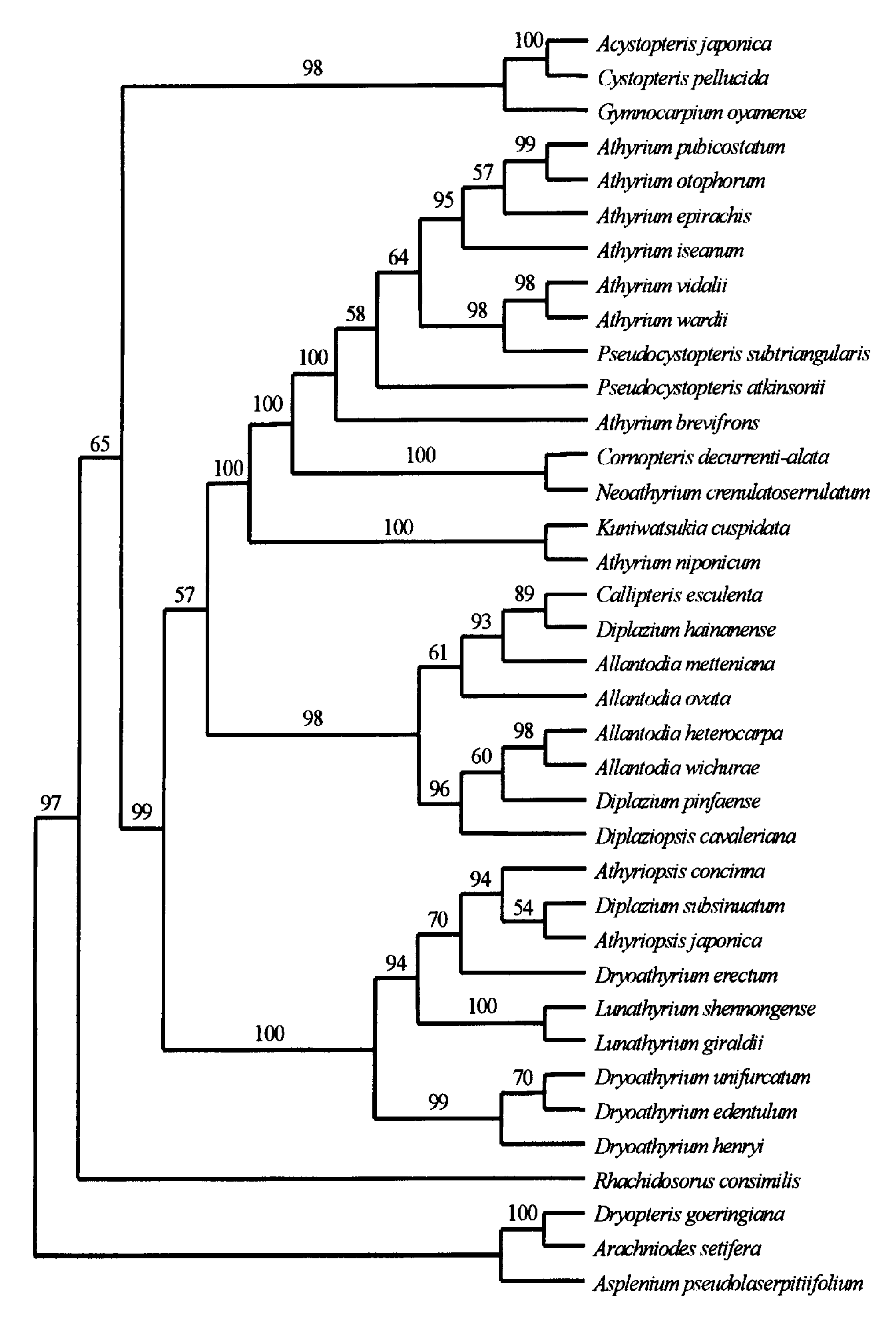


图 2　根据蹄盖蕨科 *trn*L-F 序列得到的 2 棵同等最简约树的 50%多数原则一致树(分支上面的数字代表 1000 次重复抽样检测的自展百分比)

Fig. 2.　The 50% majority rule consensus tree of the two equally most parsimonious trees in the maximum parsimony analysis with equal weighting. Bootstrap values are indicated above the branches in more than 50% of 1000 bootstrap replicates.

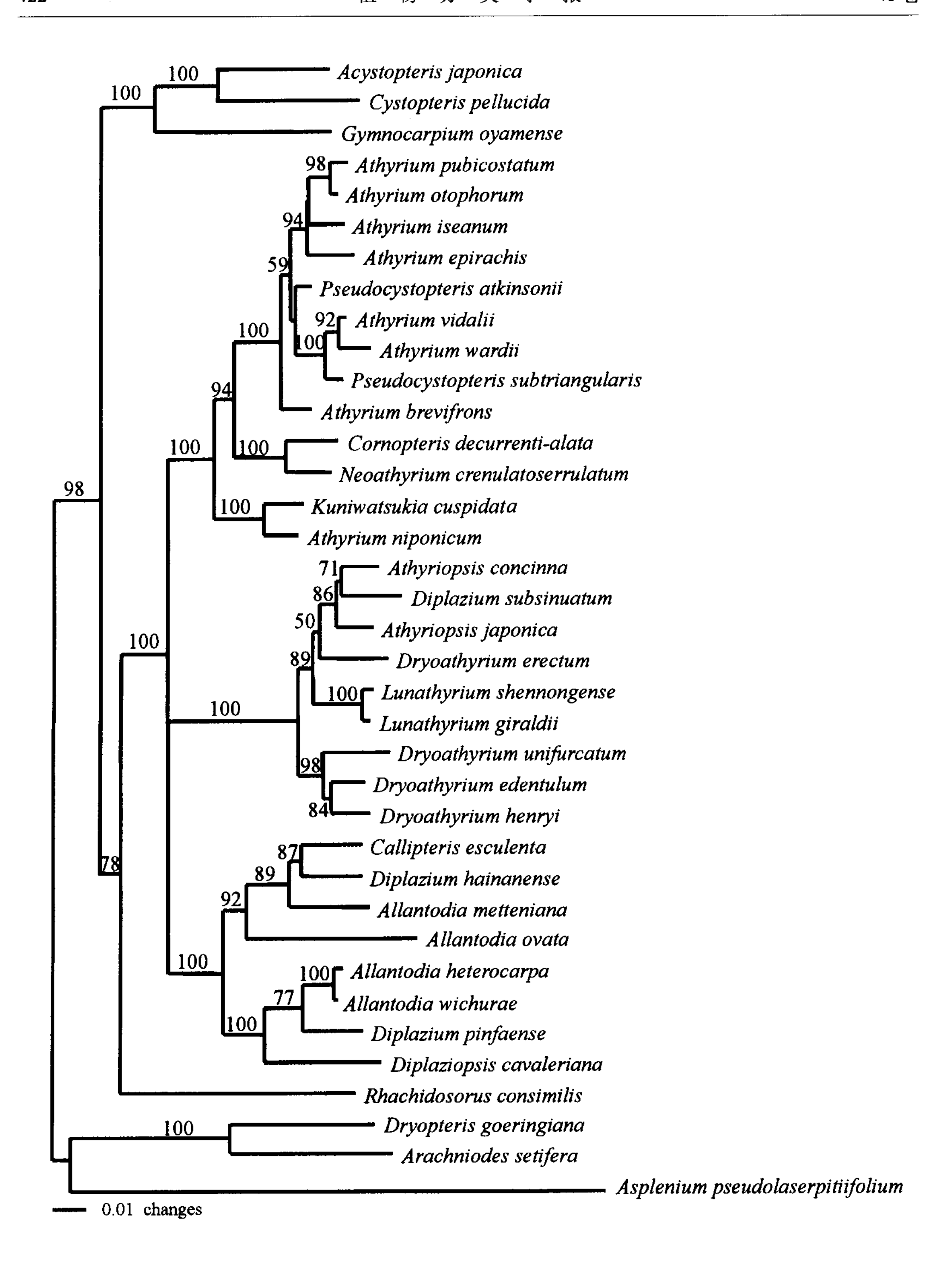


图3 用邻接法得到的系统树(分支上面的数字代表1000次重复抽样检测的自展百分比)

Fig. 3. Tree obtained using the neighbor-joining method. Bootstrap values are indicated for the branches occurring in more than 50% of 1000 bootstrap replicates.

毛蕨属及新蹄盖蕨属形成一个分支；(2)介蕨属、蛾眉蕨属、假蹄盖蕨属和单叶双盖蕨 *Diplazium subsinuatum* 组成一支；(3)亮毛蕨属、冷蕨属和羽节蕨属构成一支；(4)双盖蕨属、菜蕨属和短肠蕨属构成单系分支；(5)轴果蕨属形成独立的一支，其亲缘关系与蹄盖蕨属和双盖蕨属都较远。

*trn*L-F 系统树与 *rbc*L 系统树仅有肠蕨属的位置不同。*trn*L-F 系统树显示了肠蕨属和双盖蕨属之间具有 98%(MP)和 100%(NJ)的支持率。在 *rbc*L 系统树(MP)(Sano et al., 2000a)中，肠蕨属和 *Homalosorus* 一支与金星蕨科、乌毛蕨科、岩蕨科及蹄盖蕨科的部分属形成平行的分支，然而肠蕨属的植物形态特征与上述科属有较大的差异，这说明 *rbc*L 基因保守性强，造成它们之间的系统关系难以分辨清楚。因此，肠蕨属的系统位置应根据 *trn*L-F 系统树的结果和植物体形态特征相结合来分析。

3.2　蹄盖蕨科的一些属的分类问题

3.2.1　根据分子系统树分析的结果，认为新蹄盖蕨属 *Neoathyrium* Ching & Z. R. Wang 不能成立　秦仁昌和王中仁(1982)根据细齿蹄盖蕨 *Athyrium crenulatoserrulatum* Makino 的羽轴和小羽轴上面交接处不具肉质角状突起；羽轴、小羽轴和叶脉上面不具刺；孢子囊群小，圆形或椭圆形，从不为线形；叶片干后纸质，褐绿色；地理分布区与角蕨属不同。染色体的数目为 40 与蹄盖蕨属相同，认为该种既不属于蹄盖蕨属也不属于角蕨属，而应独立为一新属——新蹄盖蕨属。但在 *trn*L-F 系统树和 *rbc*L 系统树(Sano et al., 2000a)中，该种与角蕨属的种类均形成一支持率很高的分支，因此，该种应属于角蕨属，其学名应使用 *Cornopteris crenulatoserrulatum* (Makino) Nakai。

3.2.2　根据分子系统树分析的结果，认为假冷蕨属和拟鳞毛蕨属应包括在蹄盖蕨属中
在两种 *trn*L-F 系统树中，拟鳞毛蕨属与日本蹄盖蕨位于同一分支上。由于该种具有圆肾形的囊群盖和圆形的孢子囊群，因此以前的蕨类植物学家将其归入鳞毛蕨科。但其染色体数目及其他重要特征与蹄盖蕨科相同，所以近代的学者们(Ching, 1978; Kato, 1977; Pichi-Sermolli, 1973)将其放入蹄盖蕨科，认为应成立拟鳞毛蕨属(Ching, 1978; Pichi-Sermolli, 1973)，或并入蹄盖蕨属(Kato, 1977)，两种 *trn*L-F 系统树均支持 Kato(1977)的观点。

秦仁昌(1964)强调假冷蕨属具有圆形的孢子囊，根状茎细长横走，是介于冷蕨属和蹄盖蕨属之间的一个自然类群，但 Kato(1977)及 Tryon 和 Tryon(1982)认为假冷蕨属应为蹄盖蕨属的成员。在两种 *trn*L-F 系统树中两种假冷蕨属的植物没有位于同一分支上，而与蹄盖蕨属的成员组成一支，可见该属与蹄盖蕨属之间有密切的亲缘关系。同时 *rbc*L 系统树(Sano et al., 2000a)也支持后者的观点。

3.2.3　*Deparia* sensu Kato 是合为一属或保持传统上的多个属需要进一步研究　日本蕨类植物学家 Kato(1977)强调 *Deparia* Hook. & Grev.、介蕨属、蛾眉蕨属和假蹄盖蕨属 4 属具有相同的毛，叶的结构和外形相似，所以他将这 4 属合为 1 属 *Deparia* sensu Kato。根据 *trn*L-F 系统树，除 *Deparia* Hook & Grev. 的植物外，其余 3 属的植物的确形成一支，但 3 属又分别形成支持率较高的次一级的分支：介蕨属具有 99%(MP)和 98%(NJ)的支持率，蛾眉蕨属在两种树中均有 100% 的支持率，假蹄盖蕨属具有 70%(MP)和 50%(NJ)的支持率。这 3 属是否成立，需要进一步的研究。

假如 3 属成立，直立介蕨应属于假蹄盖蕨属，此外，王中仁(1982)在发表种时就将其

放在假蹄盖蕨属中，同时，该种的孢子形态（王玛丽等，2002）在介蕨属中最为特殊，与假蹄盖蕨属的孢子形态接近。

*trn*L-F系统树又显示单叶双盖蕨与双盖蕨属的亲缘关系较远。秦仁昌（1978）以植物体小、根状茎细长而横走、单叶远生、孢子周壁薄而透明且具粗棒状突起，将单叶双盖蕨和羽裂叶双盖蕨 *Diplazium tomitaroanum* Masamune 从双盖蕨属中分出，成立新属单叶双盖蕨属，但朱维明等（1999）不承认单叶双盖蕨属，仍将上述两种植物归入双盖蕨属。从 *trn*L-F系统树中分析秦仁昌（1978）的观点是正确的。

Sano 等（2000c）根据 *rbc*L 系统树的结果将上述两种归入 *Deparia* sensu Kato，同时 *rbc*L 系统树（Sano et al., 2000a, b）又显示网蕨属与这一类群构成单系群，故他们将网蕨属并入 *Deparia* sensu Kato。结果 *Deparia* sensu Kato 成为一个形态差异较大的属。因此，关于这一大类群是合为一属或保持传统上的多个属，需要进一步研究。

3.2.4 根据分子系统树分析的结果，认为菜蕨属和短肠蕨属应并入双盖蕨属中 秦仁昌（1964）根据短肠蕨属的叶片二至三回羽状，少为一回羽状，并不为奇数羽状分裂，羽片从基部向上逐渐缩小，草质，少为厚纸质，各回羽轴上面有一条深纵沟，两侧边有高而直立（干后倒伏）的刀口状的薄边，基部下侧下延，纵沟彼此开口互通，孢子囊群为粗而短的线形或圆形，基部的往往双生一脉，认为短肠蕨属应作为一个属从双盖蕨属中独立出来。但其他学者（Kramer & Kato, 1990; Iwatsuki, 1992）并不同意秦仁昌的观点，两种 *trn*L-F系统树和 *rbc*L 系统树（Sano et al., 2000a）也不支持将该属独立出来。

菜蕨具有网状脉，而其他形态特征与双盖蕨属相似，多数学者（Iwatsuki, 1992; Kato, 1977; Kramer & Kato, 1990）将其归入双盖蕨属，少数学者（秦仁昌, 1978; 朱维明等, 1999）认为应为独立的属。两种 *trn*L-F系统树和 *rbc*L 系统树（Sano et al., 2000a）支持前者的观点。

3.2.5 肠蕨属与双盖蕨属亲缘关系较近 在 *rbc*L 系统树（MP）（Sano et al., 2000a）中，肠蕨属和 *Homalosorus* 一支与金星蕨科、乌毛蕨科、岩蕨科及蹄盖蕨科的部分属形成平行的分支。然而，*trn*L-F系统树显示了肠蕨属和双盖蕨属之间具有98%（MP）和100%（NJ）的支持率。我们可以认为肠蕨属与双盖蕨属之间具有较近的亲缘关系，但应为一独立的属。

3.2.6 轴果蕨属与双盖蕨属和蹄盖蕨属的亲缘关系均较远 秦仁昌（1964）以 *Athyrium mesosorum* Makino 为模式，包括其余产于亚洲东南部的6种植物，成立了轴果蕨属，以前这些种有的被放入双盖蕨属（Koidzumi, 1924; Kato, 1977; Kramer & Kato, 1990），有的被归入蹄盖蕨属（Makino, 1899; Tagawa, 1936），但它们的孢子囊群和囊群盖既不像蹄盖蕨型，也不像双盖蕨型，而为铁角蕨型，囊群盖厚膜质，多少膨胀，略呈新月形，全缘，宿存，并靠近小羽片中肋或裂片主脉，彼此几并行，显然不同上述两属。此外，从叶表皮特征上也支持轴果蕨属不同于上述两属（王玛丽，任毅，1997），两种 *trn*L-F系统树和 *rbc*L 系统树（Sano et al., 2000a）均显示出该属为一独立的分支，与双盖蕨属和蹄盖蕨属的亲缘关系均较远。

3.3 蹄盖蕨科亚科的划分

王中仁（1997）根据染色体的数目，将蹄盖蕨科划分为3个亚科，但 *trn*L-F系统树和 *rbc*L 系统树（Sano et al., 2000a, b）并不完全支持这个结论。因此，我们依据分子系统学的结果，再结合其形态特征，建议将该科划分为5个亚科：

冷蕨亚科 Cystopterioideae　包括 3 个属:亮毛蕨属 *Acystopteris* Nakai、冷蕨属 *Cystopteris* Bernh.、羽节蕨属 *Gymnocarpium* Newman。这 3 个属在 *trn*L-F 系统树中形成支持率为 98%(MP)和 100%(NJ)的一支,在 *rbc*L 系统树(Sano et al., 2000a)中也形成具有支持率为 88%(NJ)的一支。

蹄盖蕨亚科 Athyrioideae　包括 2 个属:蹄盖蕨属 *Athyrium* Roth(包括假冷蕨属 *Pseudocystopteris* Ching、拟鳞毛蕨属 *Kuniwatsukia* Pic. Serm.、安蕨属 *Anisocampium* C. Presl)和角蕨属 *Cornopteris* Nakai (包括新蹄盖蕨属 *Neoathyrium* Ching & Z. R. Wang)。这一支在两种 *trn*L-F 系统树中都得到 100%的支持率,在 *rbc*L 系统树(Sano et al., 2000a)中也分别得到 88%(NJ)和 67%(MP)的支持率。

Deparioideae　包括 1 属:*Deparia* sensu Kato,或 6 个属:*Deparia* Hook. & Grev.、介蕨属 *Dryoathyrium* Ching、蛾眉蕨属 *Lunathyrium* Koidz.、假蹄盖蕨属 *Athyriopsis* Ching、单叶双盖蕨属 *Triblemma* (J. Sm.) Ching、网蕨属 *Dictyodroma* Ching。这一支在两种 *trn*L-F 系统树中均得到 100%的支持率,同时在 *rbc*L 系统树(Sano et al., 2000a)中也分别得到 96%(MP)和 100%(NJ)的支持率。

双盖蕨亚科 Diplazioideae　包括 2 个属:双盖蕨属 *Diplazium* Sw.(包括菜蕨属 *Callipteris* Bory、短肠蕨属 *Allantodia* R. Br. emend. Ching 和毛轴线盖蕨属 *Monomelangium* Hayata)和肠蕨属 *Diplaziopsis* C. Chr. (包括 *Homalosorus*)。这一支在 *trn*L-F 系统树中分别得到 98%(MP)和 100%(NJ)的支持率。

轴果蕨亚科 Rhachidosorioideae　包括 1 属:轴果蕨属 *Rhachidosorus* Ching。在 *trn*L-F 系统树和 *rbc*L 系统树(Sano et al., 2000a)中均显示出该属为一独立的分支。

致谢　汪小全研究员为本实验提供引物;廖文波副教授、董仕勇博士为本研究提供实验材料;刘正宇研究员、刘占林博士、黄姹姹小姐、包颖博士、宋葆华博士、孙映雪女士、魏晓昕博士和马小飞博士等在实验过程和实验结果分析中给予帮助,一并致谢。

参 考 文 献

Alston A G H. 1956. The subdivision of Polypodiaceae. Taxon 5: 23 – 25.

Ching R-C (秦仁昌). 1954. A systematic arrangement of the Chinese fern families and genera with corresponding names in Chinese. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 3: 93 – 98.

Ching R-C (秦仁昌). 1964. On some confused genera of the family Athyriaceae. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 9: 41 – 84.

Ching R-C (秦仁昌). 1978. The Chinese fern families and genera: systematic arrangement and historical origin. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 16 (3): 1 – 19.

Ching R-C (秦仁昌). 1978. The Chinese fern families and genera: systematic arrangement and historical origin (*Cont.*). Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 16 (4): 16 – 37.

Ching R-C (秦仁昌), Wang Z-R (王中仁). 1982. On the systematic position of *Athyrium crenulatoserrulatum* Makino from North-Eastern Asia. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 20: 73 – 77.

Chu W-M (朱维明), Wang Z-R (王中仁), Hsieh Y-T (谢寅堂), He Z-R (和兆荣). 1999. Athyriaceae. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press. 3 (2): 31 – 504.

Doyle J J, Doyle J L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19: 11 – 15.

Higgins D G. 1994. CLUSTAL W: Multiple alignment of DNA and protein sequences. In: Griffin A M, Griffin H G eds. Computer Analysis of Sequence Data, Part Ⅱ. New Jersey: Humana Press. 307-318.

Iwatsuki K. 1992. Ferns and Fern-Allies of Japan. Tokyo: Heibonsha. 232-233.

Kato M. 1977. Classification of *Athyrium* and allied genera of Japan. Botanical Magazine (Tokyo) 90: 23-40.

Koidzumi G. 1924. Contributiones ad congnitionem Florae Asiae Orientalis. Botanical Magazine (Tokyo) 38: 87-114.

Kramer K U, Kato M. 1990. Dryopteridaceae subfamily Athyrioideae. In: Kramer K U, Green P S eds. Pteridophytes and Gymnosperms. Berlin: Springer-Verlag. 130-144.

Makino T. 1899. Plantae Japonenses novae vel minus cognitae. Botanical Magazine (Tokyo) 13: 79-82.

Pichi-Sermolli R E G. 1973. Fragmenta pteridologiae, Ⅳ. Webbia 28: 445-477.

Pichi-Sermolli R E G. 1977. Tentamen Pteridophytorum genera in taxonomicum ordinem redigendi. Webbia 31: 313-512.

Sano R, Takamiya M, Ito M, Kurita S, Hasebe M. 2000a. Phylogeny of the lady fern group, tribe Physematieae (Dryopteridaceae), based on chloroplast *rbc*L gene sequences. Molecular Phytogenetics and Evolution 15: 403-413.

Sano R, Ito M, Kurita S, Hasebe M. 2000b. *Deparia formosana* (Rosenst.) R. Sano as the new name for *Diplazium formosanum* Rosenst. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 51: 17-20.

Sano R, Ito M, Kurita S, Hasebe M. 2000c. *Diplazium subsinuatum* and *Di. tomitaroanum* should be moved to *Deparia* according to molecular, morphological, and cytological characters. Journal of Plant Research 113: 157-163.

Swofford D L. 2000. PAUP* : Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*, and other methods). Version 4.0b4a. Sunderland: Sinauer Associates.

Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Biology 17: 1105-1109.

Tagawa M. 1936. Spicigelium Pteridographiae Asiae Orientalis 11. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 5: 189-197.

Tryon R M, Tryon A F. 1982. Ferns and Fern Allied Plants, with Special Reference to Tropical America. New York: Springer-Verlag.

Wang Z-R (王中仁). 1982. Four species of Athyriaceae from Emei Shan, Sichuan. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 20: 236-240.

Wang Z-R (王中仁). 1997. A subdivision of the family Athyriaceae Alston. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 35: 32-36.

Wang M-L (王玛丽), Ren Yi (任毅). 1997. Comparative morphological studies on leaf epidermis of Athyriaceae. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica (西北植物学报) 17 (5): 37-43.

Wang M-L (王玛丽), Lu S-G (陆树刚), Zhao G-F (赵桂仿). 2002. Studies on the spore morphology of *Lunathyrium* from China. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 40: 414-420.

Wei X-X (魏晓昕), Wang X-Q (汪小全). 2003. Phylogenetic split of *Larix*: evidence from paternally inherited cpDNA *trn*T-*trn*F region. Plant Systematics and Evolution 239: 67-77.